

## ASPECTS MÉTABOLIQUES DE LA FRUCTIFICATION D'*AGARICUS BISPORUS* (LANGE) IMBACH

Valérie FORET

Laboratoire de Mycochimie - Institut de Chimie et  
de Biologie Cellulaire et Moléculaire - Université  
Claude Bernard, 69622 Villeurbanne Cedex.

**RÉSUMÉ** - Les modalités de la fructification du champignon de couche *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach sont encore mal connues en dépit des nombreux articles publiés sur le sujet. Cependant, un travail important a déjà été réalisé sur certains aspects métaboliques de la fructification de cette espèce, dont la revue bibliographique qui suit donne une synthèse. Après une analyse détaillée de la composition chimique du carpophore, les modifications biochimiques associées, d'une part, au développement du carpophore et d'autre part, au cycle de fructification - phénomène des volées - sont passées en revue, avec une attention plus particulière envers les hydrates de carbone non structuraux (mannitol, tréhalose et glycogène) et les métabolites azotés solubles (urée, acides aminés libres et composés affines) et non solubles (protéines, chitine et acides nucléiques). Le rôle du métabolisme des hydrates de carbone dans le déterminisme des volées est également considéré, à la lumière de récentes découvertes.

**ABSTRACT** - The modalities of fruiting of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach are still unknown despite the numerous papers referring to them. However, much work has already been done on some metabolic aspects of the fruiting of this species of which the following bibliographic review gives a synthesis. After a detailed analysis of the sporophore chemical composition, the biochemical changes related on one hand to the fruitbody development and, on the other hand, to the fruiting cycle - flushing - are reviewed with particular attention drawn to non-structural carbohydrates (mannitol, trehalose and glycogen) and soluble- (urea, free amino acids and related compounds) and non-soluble (proteins, chitin and nucleic acids) nitrogen compounds. The role of carbohydrates metabolism in the determinism of flushes is also considered in the light of recent discoveries.

**MOTS CLÉS** : *Agaricus bisporus*, revue bibliographique, fructification, carpophore, biochimie, volée, hydrates de carbone non structuraux, métabolites azotés.

### INTRODUCTION

Le champignon de couche *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach a fait et continue de faire l'objet de nombreux travaux scientifiques en raison de son importance économique d'une part, et des modalités particulières de sa fructification d'autre part. En effet, certains aspects de la biologie de ce

champignon ne sont pas complètement élucidés: on ne connaît pas, par exemple, la nature exacte des facteurs qui contrôlent l'initiation des carpophores (fructifications); il en est de même pour les facteurs gouvernant le processus de fructification rythmée du champignon (phénomène des volées).

Les nombreuses recherches fondamentales menées dans cette voie (Hayes & Nair, 1975; Elliott, 1985 a, b; Flegg & Wood, 1985; Gaze, 1985) ont donné la preuve que l'on ne peut dissocier les différentes étapes de la physiologie du champignon (fructification en particulier) des modifications biochimiques, ou d'un point de vue général, métaboliques, subies par celui-ci.

Ainsi, une meilleure connaissance du métabolisme de la fructification d'*Agaricus bisporus* a été acquise au cours des vingt dernières années, dont nous proposons la synthèse dans la revue bibliographique qui suit.

## COMPOSITION CHIMIQUE DU CARPOPHORE

### 1- Analyse sommaire

La composition chimique du champignon de couche fait régulièrement l'objet de publications scientifiques pour deux raisons majeures:

- une connaissance approfondie de la valeur nutritive du champignon s'avère nécessaire étant donné l'importance croissante de celui-ci dans l'alimentation humaine,

- la composition chimique du champignon est difficile à évaluer à cause de sa grande variabilité, due à des facteurs extrinsèques (composition du substrat de croissance, méthode de culture, imprécision relative des méthodes d'analyse...) et intrinsèques (caractères génétiques de la souche utilisée, stade de développement et partie du carpophore considérés, phase du cycle de récolte...).

Dans le carpophore d'*Agaricus bisporus*, la matière sèche ne représente pondéralement que 10 % environ de la matière fraîche (Tab.I); elle est constituée à près de 80 % de protéines *s.l.* et d'hydrates de carbone (glucides); les lipides y sont en nette minorité.

La disparité des valeurs du taux de protéines entre les différentes publications reflète, dans une large mesure, le manque de précision des méthodes de dosage usuelles. La conversion du taux d'azote total par un facteur de 6,25 donne, selon Hayes & Haddad (1976), une mauvaise estimation du taux réel de protéines du champignon cultivé, pour deux raisons:

- les protéines brutes de l'Agaric, après purification, renfermeraient moins de 16 % d'azote (11,79 % d'après Fitzpatrick et al., 1946),

- les composés azotés non protéiques (chitine principalement) représentent une part non négligeable de l'azote total.

TABLEAU I - COMPOSITION CHIMIQUE MOYENNE DU CARPOPHORE (*AGARICUS BISPORUS*)  
 TABLE I - AVERAGE COMPOSITION OF THE SPOROPHORE (*AGARICUS BISPORUS*)

REFERENCES	MATIERE SECHE	P R O T I D E S		G L U C I D E S		L I P I D E S		C E N D R E S		AZOTE TOTAL
	% M.F.	% M.F.	% M.S.	% M.F.	% M.S.	% M.F.	% M.S.	% M.F.	% M.S.	% M.S.
Anderson & Fellers (1942)	10,5	3,94	37,5	5,09	46,5	0,19	1,81	1,26	12,0	-
Maggioli et al. (1968)	9,5 - 12 (a)	-	-	-	-	-	1,66 2,20	-	-	6,29 - 7,95
Dien & Lentner (1970)	9,2	2,86 (b)	30,4	4,60	50,0	0,24	2,61	-	-	-
Hayes & Haddad (1976)	9,0	3,50 - 3,15 (c)	38,9 - 35,0 (c)	3,45	38,3	0,40	4,44	0,90	10,0	-
Bakowski et al. (1986 b)	7,4 - 9,3 (d)	-	19,4 - 31,3 (d)	-	-	-	-	-	-	4,44 - 7,16
Kreß (1986)	8,4 - 15,7	2,21 à 3,67	-	-	-	0,23	2,72	-	-	-
Abou-Heilah et al. (1987)	9,8	5,65 (e)	51,6 (e)	1,13	11,6	0,17	1,75	-	-	6,11
Van der Meer (1987)	9,3	2,76	29,0	3,95	42,5	0,24	2,58	-	-	-

Notes : (a) Variation en fonction des vallées et de la source azotée ajoutée au compost.  
 (b) Valeur obtenue par le produit (N) = 4,17.  
 (c) Valeur supérieure obtenue par le produit (N) = 6,25; valeur inférieure obtenue par le dosage des acides aminés totaux.  
 (d) Variation en fonction de la souche mycélienne et de l'âge des carpophores; teneurs protéiques obtenues par le produit (N) = 4,38.  
 (e) Valeur obtenue par le produit (N) = 8,48.

Ou bien l'on tient compte uniquement, comme Abou-Heilah et al. (1987), du taux d'azote réel des protéines du champignon, et dans ce cas, le facteur de conversion à utiliser devient 8,48 (= 100/11,79). Ou bien l'on considère, comme Diem & Lentner (1970) et Kreß (1986), que l'azote sous forme de protéines représente 2/3 de l'azote total, et dans ce cas, le facteur de conversion devient 4,17 (= 2/3 x 6,25).

L'étude comparative réalisée par Weaver et al. (1977), tendrait à prouver que la méthode la plus fiable pour estimer le taux de protéines réel du

TABLE 11 - COMPOSITION CHIMIQUE DÉTAILLÉE DU CARPOPHORE (AGARICUS BISPORUS)  
TABLE 11 - COMPOSITION OF THE SPOREPHORE

TOTAL (50 %)	(100 %)	(11 - 5 %)	CENDRES (= FRACTION) (10 %)
<p>* Polysaccharides (25 %)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Glucanes totaux (4,6 %) dont glycogène (3,5 %)</li> <li>Muicelluloses (6,18 %)</li> </ul> <p>* Fibres (10 %)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Chitine</li> <li>Chitosan</li> </ul> <p>* Polyols (= alcools-sucre)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Mannitol (10 - 50 %)</li> <li>Inositol</li> </ul> <p>* Mono- et disaccharides (5 %)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Hexoses (glucose, galactose, fructose, mannose)</li> <li>Pentoses (xylose, ribose, rhamnose, furcose)</li> <li>Hexosamines (glucosamine, N-acétylglucosamine)</li> <li>Acides uroniques (acides galacturonique et glucuronique)</li> <li>Saccharose</li> <li>Tétralose (jusqu'à 20 %)</li> </ul>	<p>* Protéines réelles (30 %)</p> <p>* Composés azotés (5 - 10 %)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Urée (0,5 - 1 %)</li> <li>Acides aminés libres et apparentés (agarinine, ornithine...)</li> <li>Ions ammonium, nitrate, nitrite</li> <li>Bases azotées libres, nucléosides, nucléotides libres</li> </ul> <p>* Acides nucléiques (2 - 3 %)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>ADN (0,17 %)</li> <li>ARN (2,49 %)</li> </ul>	<p>* Ricanes</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Octadécane (C18)</li> <li>Nonadécane (C19)</li> <li>Eicosane (C20)</li> </ul> <p>* Hydrocarbures aliphatiques oxygénés</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Doléine (ol-1, trans-oct(1m)-ol-1)</li> <li>Composés majeurs de l'arôme (A. bisporus)</li> <li>Octanone-1, octanol-1</li> </ul> <p>* Acides gras libres, dont</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Acide linoléique (majoritaire)</li> <li>Acide palmitique</li> <li>Acide stéarique</li> </ul> <p>* Glycérides (mono-, di- et tri-)</p> <p>* Stérols et stéroïdes, dont</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Ergostérol</li> <li>lanostérol + dérivé lanostérol</li> <li>Epistérol</li> </ul> <p>* Glycolipides, dont</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Sphingolipides</li> <li>Sucres acétylés</li> </ul> <p>* Phospholipides, dont</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Phosphatidylcholine (= lécithine)</li> <li>Phosphatidyléthanolamine</li> <li>Phosphatidylsérine</li> <li>Phosphatidylinositol</li> </ul>	<p>* Principaux éléments :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Potassium (1 - 6 %)</li> <li>Phosphore (0,5 - 1,2 %)</li> <li>Manganèse (0,06 - 1 %)</li> <li>Sodium (0,05 - 0,8 %)</li> <li>Soufre (0,2 - 0,5 %)</li> <li>Calcium (0,02 - 0,2 %)</li> <li>Magnésium (0,08 - 0,1 %)</li> <li>Fer (0,002 - 0,05 %)</li> <li>Cuivre (0,003 - 0,02 %)</li> <li>Zinc (0,004 - 0,009 %)</li> </ul> <p>* A l'état de traces :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>B, Ag, E, Ca, Cr, I, K, Pb, Se.</li> </ul> <p>* Et éventuellement :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Co, Cu, Hg, Pd.</li> </ul>

Entre parenthèses : teneurs en pourcentage des poids de matière sèche.

Références bibliographiques :

- |                              |                                 |                                     |                                 |
|------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------|
| 1- Abou-Heilah et al., 1987. | 11- Fujii et al., 1982.         | 21- Hughes et al., 1958.            | 31- K. Connell & Escotte, 1967. |
| 2- Altamura et al., 1967.    | 12- Gouillon et al., 1975.      | 22- Jannet, 1927.                   | 32- Michalek et al., 1976.      |
| 3- Bakewell & Rossen, 1965.  | 13- Griffin et al., 1976.       | 23- Jassveer-Holmisen et al., 1966. | 33- Nguyen et al., 1968.        |
| 4- Bakewell et al., 1958 b.  | 14- Grove, 1931.                | 24- Kostelc & Hendry, 1981.         | 34- Rozas-Ledru & Nedrea, 1991. |
| 5- Bakewell et al., 1958 c.  | 15- Hammond, 1971 ad            | 25- Krel, 1966.                     | 35- Oka et al., 1972.           |
| 6- Sarna & Brennan, 1975.    | 16- [redacted] & Nichols, 1979. | 26- Krishna & Pulaev, 1965.         | 36- Oka et al., 1981.           |
| 7- Bryce et al., 1979.       | 17- Hashida et al., 1984.       | 27- Litch, 1970.                    | 37- Pysyalo, 1976.              |
| 8- Cronin & Ward, 1971.      | 18- Holtz, 1971.                | 28- [redacted] & Rast, 1978.        | 38- Pysyalo, 1978.              |
| 9- Diem & Lentner, 1970.     | 19- Holtz & Schuster, 1971.     | 29- [redacted] & Ching, 1988.       | 39- [redacted] Meer, 1967.      |
| 10- Enke et al., 1979.       | 20- Hughes, 1962.               | 30- Ruggioni et al., 1968.          | 40- Varo et al., 1990.          |
|                              |                                 |                                     | 41- Weaver et al., 1977.        |

champignon de couche, est celle basée sur le dosage des acides aminés constitutifs des protéines (après hydrolyse chimique totale).

## 2- Analyse détaillée

Le tableau II donne la composition détaillée (mais cependant non exhaustive) des différentes fractions biochimiques du carpophore d'*Agaricus bisporus*.

D'une façon générale, on retrouve chez *A. bisporus* la plupart des composés typiquement fongiques; parmi ceux-ci, la **chitine** et son dérivé désacétylé le **chitosane**, constituants de base de la paroi cellulaire des champignons (et représentants majeurs des fibres), le **mannitol**, le **tréhalose** et le **glycogène**, glucides très largement répandus chez les champignons, l'**urée**, carbamide abondante chez de nombreux Basidiomycètes, l'**ergostérol**, stérol localisé dans les membranes cellulaires et constituant la provitamine D<sub>2</sub>; il faut citer également l'**octène-1 ol-3**, composé volatil responsable, pour beaucoup, de l'odeur caractéristique de nombreux champignons - aussi appelé "alcool de champignon".

TABLEAU III - COMPOSITION EN VITAMINES DU CARPOPHORE (*AGARICUS BISPORUS*)  
TABLE III - VITAMIN CONTENT OF THE SPOROPOHORE (*AGARICUS BISPORUS*)

VITAMINES HYDROSOLUBLES (en mg pour 100 g de partie consommable fraîche)									
Références	Thiamine (B1)	Ribo- flavine (B2)	Panto- thénate (B5)	Pyrido- xine (B6)	Cyano- cobalamine (B12)	Folate (Bc)	Ascor- bate (C)	Biotine (H)	Niacine (B3)
Anderson & Fellers (1942)	0,12	0,52	2,38	-	-	-	8,62	0,006	5,85
Filios & Esselen (1946)	-	0,34- 0,35	1,24- 2,19	-	-	-	-	0,006	3,06- 4,25
Dies & Lentner (1970)	0,10	0,44	2,10	0,05	-	0,03	5,00	0,016	6,26
Hayes & Hand (1981)	-	-	-	-	0,03- 0,06	-	-	-	-
Bakowski et al. (1986 b)	-	-	-	-	-	-	4,82- 7,26	-	-
Kreß (1986)	0,10	0,45	2,10	-	-	-	4,00	-	4,70
Van der Meer (1987)	0,10	0,44	2,10	-	-	0,025	5,00	0,016	5,20
VITAMINES LIPOSOLUBLES (pour 100 g de partie consommable fraîche) (Van der Meer, 1987)									
Vitamine A : 10 µg									
Vitamine D : 2 µg									
Vitamine E : 0,078 µg									

Certains composés sont plus spécifiques du genre *Agaricus* voire de l'espèce *A. bisporus*; il s'agit en général de métabolites secondaires: ce sont, chez *A. bisporus* en particulier, l'**agaritine** ou  $\gamma$ -glutamyl-4 hydroxyméthylphénylhydrazine et le **GHB** ou  $\gamma$ -glutaminy-4 hydroxybenzène, tous deux dérivés de la voie du shikimate et assimilés à des acides aminés en raison de la présence dans leur structure, d'un résidu d'acide glutamique (Schütte et al., 1972; Stüssi & Rast, 1981).

La fraction minérale se caractérise par la prédominance du **potassium** et du **phosphore** - les teneurs de ces éléments peuvent cependant varier considérablement en fonction de la composition du substrat et de la souche considérée (cf références du tableau). Certains éléments associés à la fonction de diverses enzymes sont présents en quantités non négligeables, en particulier le **manganèse**, le **magnésium**, le **fer**, le **cuivre** et le **zinc**. Les métaux lourds comme le mercure, le cadmium et le plomb, dont la toxicité chronique pour le consommateur ne doit pas être négligée, proviennent le plus souvent d'une contamination du substrat par des pesticides (paille) ou des médicaments vétérinaires (fumier de cheval).

Il faut signaler également la présence de vitamines indispensables dans le métabolisme général du champignon... et celui du consommateur (Tab. III). Parmi les plus abondantes, la **vitamine C** (acide ascorbique), la **vitamine PP** ou **B3** (niacine ou acide nicotinique), la **vitamine B5** (acide pantothénique), la **vitamine B2** (riboflavine). Les vitamines liposolubles (**A**, **D**, **E**) contrastent avec les vitamines hydrosolubles par leurs faibles teneurs pondérales: ceci reflète sans doute la faible représentativité de la fraction lipidique - quantitativement parlant - dans le carpophore d'*Agaricus bisporus*.

## MODIFICATIONS BIOCHIMIQUES LIÉES AU DÉVELOPPEMENT DU CARPOPHORE

### 1- Cas des glucides non structuraux

#### *Importance quantitative et principaux représentants*

La part des glucides non structuraux - glucides ne participant pas à l'édification des structures cellulaires telles que membranes, parois etc... - est quasiment équivalente à celle des glucides structuraux (chitine et autres polysaccharides) dans le carpophore d'*Agaricus bisporus*: elle représente en moyenne 20 à 25 % du poids de matière sèche du carpophore.

Parmi les glucides non structuraux, quatre composés semblent jouer un rôle prépondérant dans la croissance du carpophore: le **glucose**, le **mannitol**, le **tréhalose** (dimère du glucose, liaison  $\alpha$ -1,1) et un glucane soluble assimilé à du **glycogène** (résidus glucose polymérisés en  $\alpha$ -1,4 avec des ramifications en  $\alpha$ -1,6).

Le mannitol, polyol le plus fréquemment rencontré dans les champignons (Lewis & Smith, 1967) est de loin le plus abondant des quatre composés puisque sa teneur peut s'élever jusqu'à près de 50 % du poids de matière sèche du carpophore (Hammond & Nichols, 1976 a). Le tréhalose et

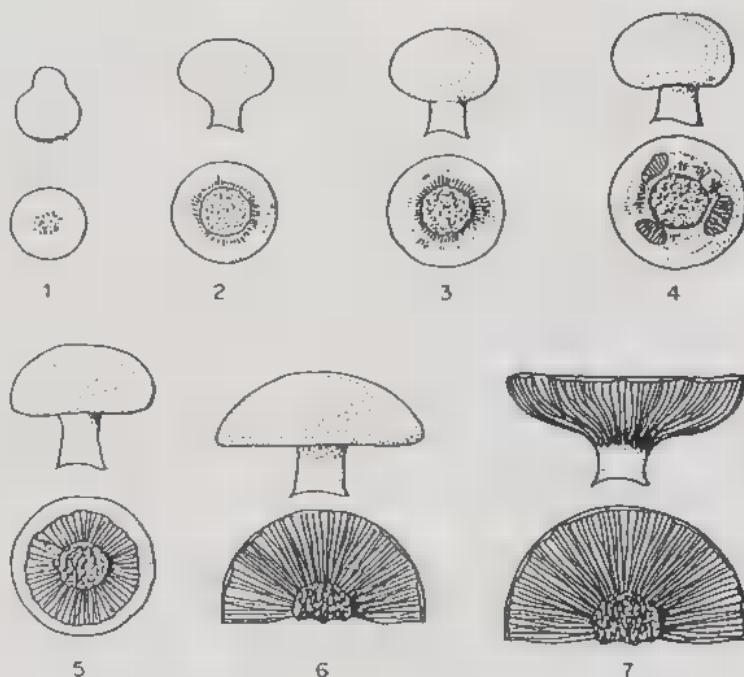


Figure 1 - Aspect des carpophores d'*Agaricus bisporus* aux stades morphogénétiques définis par Hammond & Nichols (1976 a).

Figure 1 - Appearance of *Agaricus bisporus* sporophores at the morphogenetic stages defined by Hammond & Nichols (1976 a).

le glycogène, également présents dans les levures et les spores de nombreux champignons, représentent à eux-deux entre 5 et 10 % du poids de matière sèche dans les carpophores de stade 2 (cf. Fig. 1) récoltés en milieu de volée (Hammond & Nichols, 1979). Quant au glucose, sa teneur n'excède pas 1 % du poids de matière sèche dans le carpophore (Hammond & Nichols, 1976 a).

#### Répartition spatio-temporelle

La répartition tissulaire des hydrates de carbone solubles diffère d'un composé à l'autre dans le carpophore en développement (Fig. 2). Le glucose et le mannitol s'accumulent principalement dans les parties stériles (stipe et trame du piléus) tandis que le tréhalose et le glycogène sont uniformément distribués dans le carpophore (Hammond & Nichols, 1976 a, b).

Si l'on écarte les valeurs extrêmes du taux de glycogène atteintes par les jeunes carpophores récoltés à l'émergence d'une volée (jusqu'à 20 % du poids de matière sèche, selon Hammond & Nichols, 1979), les teneurs moyennes du polysaccharide passent de 2 - 4 % à 5 - 8 % du poids de matière sèche entre le stade "bouton" et le stade "étalé" (Hammond & Nichols, 1976 b). Le glycogène est aussi présent dans le mycélium à des concentrations voisines de celles des jeunes carpophores (environ 3,5 % du

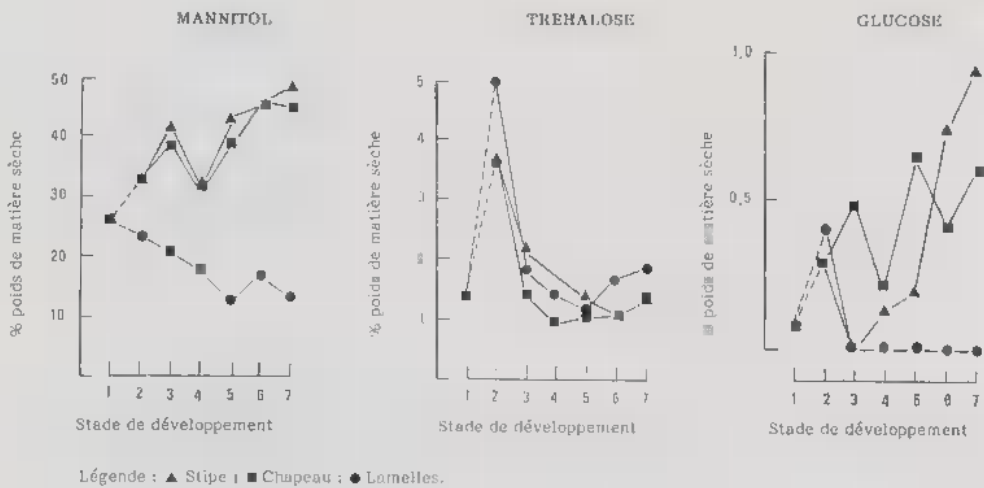


Figure 2 - Evolution du niveau des hydrates de carbone non structuraux au cours du développement du carpophore (d'après Hammond & Nichols, 1976 a).

Figure 2 - Changes in non-structural carbohydrates content during the sporophore development (from Hammond & Nichols, 1976 a).

poids de matière sèche); par ailleurs, il n'a pas été détecté dans les spores (Lendenmann & Rast, 1978).

A l'inverse de celui du glycogène, le taux du tréhalose chute dans le carpophore, en début de croissance, et il semble que cette diminution soit la poursuite d'un processus amorcé pendant la croissance végétative puisque les teneurs maximales du disaccharide ont été enregistrées dans le mycélium au moment du gobetage, soit plus de deux semaines avant l'apparition des premiers carpophores. La répartition homogène du tréhalose entre mycélium et carpophore suggère l'existence d'un processus de translocation du composé dans le champignon (Hammond & Nichols, 1976 a).

En ce qui concerne le mannitol et le glucose, un net antagonisme semble exister entre les lamelles et les parties stériles du carpophore d'une part, et, pour le mannitol seulement, entre le carpophore et le mycélium d'autre part. En effet, tout au long du développement du carpophore, le niveau de ces deux hydrates de carbone diminue dans les lamelles alors qu'il s'élève dans le stipe et la trame du piléus; dans le mycélium, le mannitol reste à des teneurs relativement basses (environ 3 % du poids de matière sèche) tant pendant la croissance végétative que pendant la fructification (Hammond & Nichols, 1976 a).

#### Rôle physiologique et métabolique

Deux observations ont permis d'établir un parallèle entre l'augmentation de la teneur en mannitol dans le carpophore de *A. bisporus* en croissance et l'augmentation d'activité de la voie des hexoses monophosphates



(voie des HMP) qui fournit le NADPH, cofacteur enzymatique nécessaire à la synthèse du polyol (Ruffner et al., 1978):

\* la participation de la voie des HMP dans l'oxydation du glucose devient prédominante sur celle de la glycolyse pendant la croissance du carpophore alors qu'elle est minoritaire pendant la croissance végétative (Le Roux, 1967; Hammond, 1977),

\* les lamelles, qui produisent moins de mannitol que le reste du carpophore, montrent une activité plus faible de la voie des HMP que le stipe et la trame du piléus (Le Roux, 1967; Hammond & Nichols, 1976 a).

Ces observations ont conduit à proposer des hypothèses intéressantes quant au rôle du mannitol dans le métabolisme de la fructification du champignon de couche. En effet, on attribue généralement à la voie des HMP, appelée aussi voie des pentoses phosphates, la fonction de produire une réserve de NADPH, indispensable aux réactions de synthèse réductrice (lipogenèse en particulier), ainsi que des pentoses activés, nécessaires à la biosynthèse des acides nucléiques.

S'il n'est pas surprenant, à première vue, qu'en phase de reproduction sexuée, l'activité de la voie des HMP soit accrue dans le champignon - les nombreuses divisions cellulaires de la sporogénèse exigent la répllication de l'ADN et l'élaboration de nouvelles membranes dont les constituants de base sont des lipides - il est en revanche plus étonnant de constater, comme l'ont fait Dütsch & Rast (1972) et plus tard Hammond (1985 a, b) que le niveau de mannitol est corrélé de façon négative avec le rapport quantitatif  $\text{NADPH} / \text{NADPH} + \text{NADP}$  appelé charge de réduction anabolique. Selon l'hypothèse des auteurs, il pourrait exister une relation métabolique entre l'activité de la mannitol déshydrogénase, enzyme NADPH-dépendante catalysant la synthèse du polyol (Ruffner et al., 1978) et celle des deux enzymes-clefs de la voie des HMP, la glucose-6-phosphate déshydrogénase et la phosphogluconate déshydrogénase: dans les lamelles, où les dépenses en NADPH sont sans doute plus importantes que dans le reste du carpophore (sporogénèse), la baisse du rapport  $\text{NADPH} / \text{NADPH} + \text{NADP}$  entraînerait une diminution de l'activité de la mannitol déshydrogénase d'où la diminution du niveau de mannitol.

D'une façon plus générale, le mannitol, comme de nombreux polyols acycliques végétaux, exercerait un contrôle sur le métabolisme glucidique du champignon (Lewis & Smith, 1967). Il reste cependant à établir la nature et le rôle exacts de la relation métabolique entre la voie des HMP et la synthèse du mannitol dans la fructification du champignon.

En ce qui concerne le rôle physiologique du mannitol, plusieurs auteurs s'accordent pour attribuer au polyol une fonction osmorégulatrice dans les hyphes du carpophore. En effet, Hammond & Nichols (1975) et Hammond (1979 a) ont démontré que le mannitol, une fois synthétisé, n'est métabolisé que dans des conditions "anormales" de croissance ou dans des conditions de survie, par exemple, après la récolte ou pendant la phase de sénescence du carpophore. Dans les conditions habituelles de développement, le champignon ne semble pas utiliser le polyol comme substrat respiratoire ou de

croissance, car le turn-over du composé, dans le mycélium et le carpophore, est très lent. Les différences de concentration observées entre les différentes parties du carpophore ne relèveraient que de variations de la vitesse de synthèse du composé.

Parallèlement à cette apparente inertie métabolique du mannitol, Hammond & Nichols (1976 a) ont constaté que l'augmentation de la concentration du polyol dans le carpophore est moins forte en proportion du poids de matière fraîche qu'en proportion du poids de matière sèche: ceci tendrait à prouver que le mannitol est maintenu à un niveau relativement constant dans l'eau cellulaire grâce à un flux hydrique permanent en direction du carpophore. La haute concentration du mannitol dans les hyphes du carpophore et plus particulièrement celles du stipe et de la trame du pileus qui sont soumises à un allongement rapide, pourrait donc être une réponse adaptative du champignon à l'important stress hydrique qu'il subit pendant sa fructification, comme cela s'observe avec divers polyols chez les végétaux chlorophylliens - algues notamment (Lewis & Smith, 1967).

Le tréhalose et le glycogène quant à eux, semblent avoir des fonctions bien distinctes de celles du mannitol, à savoir celles de matériaux de croissance.

Le tréhalose, dont la répartition tissulaire est quasi-homogène dans les fructifications, serait synthétisé au niveau du mycélium et transporté - par un mécanisme non encore élucidé - vers les carpophores en développement où il constituerait une réserve de substrat hydrocarboné (glucose). La baisse de la concentration du disaccharide observée dans le champignon dès la phase d'induction de la fructification (*i.e.* au gobetage) serait consécutive non pas à un accroissement du catabolisme du composé mais plutôt à une diminution de sa vitesse de synthèse; celle-ci pourrait s'effectuer, selon Hammond & Nichols (1976 a), aux dépens de réserves glucidiques stockées dans le mycélium.

Le glycogène, dont les teneurs dans le mycélium et le carpophore sont semblables, est probablement mobile, tout comme le tréhalose, à l'intérieur du champignon (Hammond, 1979 b). Ce polysaccharide, bien que peu étudié, pourrait participer, comme cela a été montré chez l'Agaric *Flammulina velutipes* (Kitamoto & Gruen, 1976, cités par Manachère, 1988), à la synthèse du tréhalose et du mannitol.

Nous verrons plus loin que les conditions qui gouvernent l'accumulation et l'utilisation des trois composés semblent très importantes dans le contrôle endogène du phénomène des volées.

## 2- Cas des composés azotés

### *Aspects généraux*

Le développement du carpophore implique un important prélèvement d'azote de la part du mycélium, qui est réalisé en partie grâce à l'action des diverses enzymes excrétées dans le compost par le champignon: comme de nombreux Basidiomycètes, *Agaricus bisporus* est capable d'utiliser, *via* l'action de diverses protéases extracellulaires, l'azote des protéines et des

TABLEAU IV - COMPARAISON DES TENEURS D'AZOTE TOTAL ET SOLUBLE DU CARPOPHORE ■ DEUX STADES EXTREMES DE SON DEVELOPPEMENT (d'après les données numériques de Konishi, 1967)

TABLE IV - COMPARISON OF THE TOTAL AND SOLUBLE NITROGEN CONTENT OF THE SPOROPOHORE AT TWO ENDS OF ITS DEVELOPMENT (numerical data from Konishi, 1967)

	Carpophore de longueur	Carpophore de longueur
	L = 20 mm	■ = 118 mm
Poids de matière sèche (P.M.S.)	11,25 g	10,2 g
Azote total (N <sub>t</sub> )		
Quantité	24,9 mg	26,17 mg
Concentration	2,19 % P.M.S.	2,55 % P.M.S.
Azote soluble (N <sub>s</sub> )		
Quantité	11,3 mg	12,7 mg
Concentration	1,00 % P.M.S.	1,25 % P.M.S.
Rapport (N <sub>s</sub> /N <sub>t</sub> ) x 100	45,4 %	48,8 %

peptides liés à la fraction ligneuse des pailles, et également celui des protéines microbiennes synthétisées pendant la phase de compostage (Gerrits, 1969). Cependant, le champignon de couche peut aussi utiliser des composés azotés solubles variés, tels les sels d'ammonium, l'urée ou encore divers acides aminés (Casimir & Heinemann, 1953).

Entre le stade "bouton" (longueur L = 20 mm) et le stade sporulant (longueur L = 118 mm), les taux d'azote total et soluble diminuent sensiblement (Tab. IV): la part pondérale des composés non azotés - hydrates de carbone essentiellement - devient prépondérante sur celle des composés azotés. Le rapport du poids d'azote soluble (azote sous forme non polymérisée) au poids d'azote total diminue également, ce qui témoigne de la synthèse accrue de polymères azotés tels que chitine, protéines, acides nucléiques... au cours de la maturation du carpophore. La part des composés azotés solubles reste cependant importante, puisqu'en fin de croissance, l'azote soluble représente encore plus de 30 % de l'azote total. Il est possible, selon Latché (1970) que ces valeurs élevées du taux d'azote soluble soient caractéristiques de la phase de fructification d'*Agaricus bisporus*, étant donné que, dans le mycélium végétatif cultivé sur milieu synthétique, l'azote soluble ne dépasse pas 20 à 30% de l'azote total.

Les taux d'azote soluble (exprimés en pourcentage du poids de "tissu" sec) diminuent également dans les différentes parties du carpophore. Les lamelles recueillent, jusqu'en fin de maturation, les taux les plus élevés, suivies par la trame du pileus et le stipe (Fig. 3). L'évolution différentielle des teneurs d'azote soluble à l'intérieur du carpophore, reflète, comme c'est le cas avec les hydrates de carbone, des différences d'activité métabolique entre parties fertiles (lamelles) et parties stériles (stipe et trame du pileus).

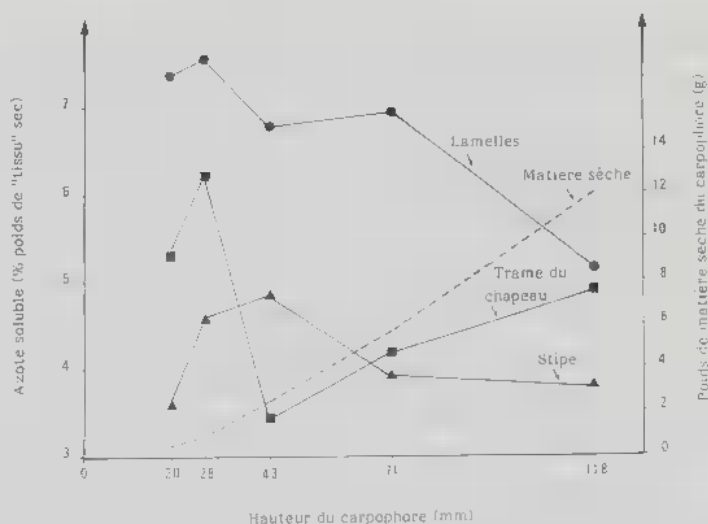


Figure 3 - Evolution de la concentration pondérale d'azote soluble dans les différentes parties du carpophore en développement (d'après les données numériques de Konishi, 1967).

Figure 3 - Changes in soluble nitrogen concentration in different parts of the developing sporophore (numerical data from Konishi, 1967).

L'étude des représentants majeurs des fractions azotées soluble et insoluble a permis de confirmer ces observations et d'apporter des précisions sur le métabolisme azoté du carpophore.

#### *Etude de la fraction azotée soluble*

L'azote soluble est représenté en grande partie par des **acides  $\alpha$ -aminés libres, oligopeptides** et composés biochimiquement apparentés. Il faut y ajouter l'**urée**, produite en quantité relativement importante, ainsi que les bases azotées, nucléosides et nucléotides libres divers, dont les teneurs, bien que rarement évoquées dans la littérature, ne semblent pas négligeables (Kritskii & Kulaev, 1963; Hashida et al., 1964; Nguyen et al., 1988).

#### a) Acides aminés libres et apparentés

\* Représentativité dans la fraction azotée soluble:

L'azote des acides  $\alpha$ -aminés libres représente environ 18 % de l'azote total du carpophore (données de Maggioni et al., 1968, recalculées par Manning, 1985) soit un peu plus de 40 % de l'azote soluble, si l'on admet que cette dernière forme d'azote représente en moyenne 45 % de l'azote total - Latché (1970) donne des valeurs échelonnées entre 34 et 46 % selon la volée considérée. La quantité d'azote total des carpophores ne représentant en moyenne que 6 % du poids de matière sèche (cf Tab. I), les acides  $\alpha$ -aminés libres ne contribuent pondéralement qu'à 1,2 % de la matière sèche.

Parmi les acides  $\alpha$ -aminés libres détectés dans les carpophores de *A. bisporus*, l'acide glutamique, l'acide aspartique, l' $\alpha$ -alanine, l'ornithine, l'arginine, la lysine, la proline et la sérine occupent une place importante. Les sept acides aminés obtenus en retranchant l'arginine à la liste précédente, représenteraient près de 80 % de l'azote de l'ensemble des acides  $\alpha$ -aminés libres, 20 à 25 % relevant uniquement de l'acide glutamique (Manning, 1985).

Les acides aminés tels que la thréonine, la valine, la leucine, l'isoleucine, l'histidine, ainsi que les acides aminés soufrés (méthionine, cystéine, cystine) et aromatiques (phénylalanine, tyrosine, tryptophane) sont peu représentés dans la fraction azotée soluble comparativement aux précédents (Latché, 1970).

Parmi les composés apparentés aux acides  $\alpha$ -aminés (petits peptides inclus), certains ont été détectés dans le carpophore du champignon de couche à l'état de traces, d'autres en quantités non négligeables, tels par exemple, l'agaritine et le GHB qui représentent à eux-deux près de 1 % du poids de matière sèche.

La liste proposée ci-après (Tab. V) ne se veut ni définitive ni exhaustive: d'une part, tous les composés azotés solubles sont loin d'avoir été découverts, d'autre part, il est possible que la présence de certains composés soit purement artéfactuelle: par exemple, la présence de L-canavanine (rapportée par Altamura et al., 1967) a été contestée par Rosenthal & Davis (1975).

\* Variations quantitatives en fonction du stade de développement du carpophore - Répartition spatiale:

Une étude détaillée a été effectuée par Latché (1970) dont il ressort les résultats suivants:

- les teneurs en acides aminés libres sont élevées dans les jeunes carpophores et augmentent nettement jusqu'à la formation des basidiospores; au moment de la sporulation, on observe une chute marquée et générale de ces teneurs,
- les différentes parties du carpophore (stipe, trame du piléus et lamelles) n'ont pas la même composition en acides aminés libres: **au stade I** (poids moyen du carpophore variant entre 2 et 3,5g, lamelles jaunâtres d'une épaisseur de 1mm environ), le stipe est plus riche en acides aminés basiques (ornithine, arginine, lysine) que le piléus: dans celui-ci, les acides aminés libres les plus représentés sont les acides aspartique et glutamique, l'alanine, la valine, les leucines, les acides aminés soufrés et aromatiques; **au stade II** (carpophores ayant atteint leur taille maximum, mais voile intact et basidiospores pas encore formées), les différences entre stipe et piléus se maintiennent en ce qui concerne la proline, l'arginine, la lysine, l'alanine, la valine, les leucines et les acides aminés aromatiques; la glutamine et l'asparagine constituent avec l'urée la plus grande partie des substances azotées solubles de la trame du piléus; l'hyménium, quant à lui, est riche en proline, acides glutamique et aspartique, mais pauvre en acides aminés basiques; **■ stade III** (hyménium ayant achevé son développement, sporulation ayant déjà débuté), parallèlement à la baisse générale du niveau des acides aminés libres, on constate que les proportions relatives des

TABLEAU V - ACIDES AMINES NON PROTÉIQUES ET COMPOSÉS APPARENTÉS DÉTECTÉS  
 À L'ÉTAT LIBRE DANS LE CARPOPHORE (*AGARICUS BISPORUS*)  
 TABLE V - FREE NON PROTEIC AMINO ACIDS AND RELATED COMPOUNDS DETECTED IN THE  
 SPOROPHORE (*AGARICUS BISPORUS*)

Composés présents en quantités supérieures aux traces	Composés présents à l'état de traces d'après Latché (1970) et/ou Altamura et al. (1967)
N - acétylglucosamine *	β-Alanine <sup>a, b, h</sup>
Allantoïne *	Acide β-aminoisobutyrique *
Acide allantoïque *	Citrulline <sup>a, h</sup>
Agaritine (0,5 % P.M.S.) *	Cystathionine <sup>a, b</sup>
Acide α-aminoadipique <sup>a, b</sup>	Acide cystéique <sup>a, b, c, d, e</sup>
Acide γ-aminobutyrique (GABA) <sup>b, c, d, e</sup>	Galactosamine *
Canavanine *	Glucosamine *
Carnosine *	L - Lanthionine *
Créatinine *	meso - Lanthionine *
Acide diaiminobutyrique-2,4 *	Méthyl-1 histidine *
Dihydroxy-3,4 phénylalanine (DOPA) *	Méthyl-3 histidine *
Ethanolamine *	Phosphoéthanolamine *
γ-Glutamyl-4 hydroxybenzène (GHB) *	
γ-Glutamyl - dihydroxybenzène-3,4 (GDHB)	
γ-Glutamyl - éthanolamine *	
γ-Glutamyl - glycine *	
γ-Glutamyl - 5 - méthylcystéine *	
Homocystine *	
Homosérine *	
Hydroxyllysine *	
Hydroxyproline *	
Kynurénine *	
Méthionine-sulfone *	
Méthionine-sulfoxyde <sup>a, h</sup>	
Phosphosérine *	
Saccharopine <sup>a</sup>	
Sarcosine *	
Taurine <sup>a, b</sup>	
Acide urique *	

\* P.M.S. = Poids de matière sèche

Références :

a - Brunel, 1936.	q - Altamura et al., 1967.
b - Hughes et al., 1958.	h - Latché, 1970.
c - Jadot et al., 1969.	j - Szent-Gyorgyi et al., 1976.
d - Levenberg, 1961.	j - Oka et al., 1979.
e - Latché, 1963.	k - Oka et al., 1980.
i - Xissæyer-Nielsen et al., 1966.	

différents acides aminés libres du stipe et de la trame du pileus tendent à s'égaliser sauf en ce qui concerne la proline; dans les lamelles, l'acide glutamique représente plus du tiers du total des acides aminés libres détectés, l'acide aspartique et l'alanine étant également présents en quantités notables.

Comme le suggère Latché (1970), les variations du niveau des acides aminés libres enregistrées dans les différentes parties du carpophore rendent compte, ou bien de changements métaboliques en rapport avec l'élaboration des spores, ou bien de la modification des transferts de substances azotées solubles entre mycélium et carpophore. Les parties stériles du carpophore - stipe et trame du pileus - serviraient en quelque sorte d'"organes" de réserve et/ou d'intermédiaires entre le mycélium végétatif et l'hyménium en développement. Les observations cytologiques de Vogel & Weaver (1972) vont dans ce sens, car elles démontrent l'existence d'un processus de migration de matériel cellulaire - cytoplasme et mitochondries - vers les lamelles, et ce, à partir du reste du carpophore.

Toutefois, il est possible, selon l'hypothèse de Konishi (1967), que ces acides aminés libres, compte-tenu de leur faible teneur pondérale, ne participent pas directement à l'élaboration de constituants cellulaires, mais servent d'activateurs dans certaines voies métaboliques voire d'intermédiaires dans la synthèse d'éventuels facteurs de croissance, notamment le toujours hypothétique (et non identifié) facteur d'allongement du stipe et d'expansion du pileus. L'auteur a pu mettre en évidence un mouvement globalement ascendant des acides aminés libres dans le carpophore, qui pourrait être corrélé au mouvement descendant du facteur de croissance produit par les lamelles.

L'acide glutamique, qui constitue un aliment azoté de choix, à la fois pendant la croissance végétative du mycélium et le développement du carpophore (Piquemal, 1970), semble occuper une place prépondérante dans le métabolisme azoté du carpophore: cet acide aminé, qui est de loin le plus abondant dans la fraction  $\alpha$ -aminée libre et dans les protéines, est issu du cycle de Krebs (Le Roux, 1966) et constitue le donneur préférentiel de groupements  $-NH_2$  dans les réactions de transamination conduisant à la synthèse de nombreux acides aminés (Latché, 1970). Baldy (1975, 1976, 1977) a démontré l'existence d'une dérivation du cycle de Krebs au niveau de l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique, aboutissant à l'acide succinique par l'intermédiaire de l'acide glutamique et de l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique: la fonction exacte de cette dérivation n'est pas encore connue, mais il est possible, étant donné que cette voie est plus active que les réactions conventionnelles du cycle de Krebs entre l' $\alpha$ -cétoglutarate et le succinate, qu'elle soit utilisée dans la synthèse des acides aminés.

#### b) Urée

La teneur en urée des carpophores du champignon de couche s'élève en moyenne à 0,5 - 1 % du poids de matière sèche; d'après Iwanoff (1923), elle ne cesserait d'augmenter au cours de la croissance, pour atteindre la valeur de 6,18 % dans les carpophores mûrs de *A. campestris* (ici confondu avec *A. bisporus*).



Les résultats d'Iwanoff ont été nuancés par Latché (1970): la concentration en urée des carpophores resterait relativement stable au cours des différents stades de croissance, la carbamide devenant, suite à la diminution du niveau global des acides aminés libres, le composé azoté soluble prépondérant dans les échantillons âgés. La carbamide, plus abondante dans le piléus que dans le stipe des jeunes carpophores, tend à s'accumuler dans les lamelles des carpophores mûrs (Latché, 1970). Ce fait a également été constaté par Moore (1984) chez *Coprinus cinereus*.

L'urée est un composé fréquemment rencontré chez les Basidiomycètes, qui peut avoir pour origine, ou bien la dégradation aérobie des purines, issues elles-mêmes du catabolisme des acides nucléiques, ou bien le cycle de Krebs - Henseleit ou cycle de l'ornithine, qui fonctionne chez les Basidiomycètes de la même façon que chez les animaux uréotéliques (*i.e.* animaux excrétant l'azote sous forme d'urée). Chez *A. bisporus*, il semble que l'urée soit formée en majeure partie *via* le cycle de l'ornithine, car les uréides glyoxyliques (allantoïne et acide allantoïque) sont produits en quantités insignifiantes par rapport à la carbamide (Brunel, 1936; Reinbothe & Tschiersch, 1962).

Le rôle physiologique de l'urée est encore mal connu chez les Basidiomycètes, comme en témoignent les résultats parfois contradictoires de différents auteurs.

Selon Iwanoff (dont les travaux de 1923 à 1927 sont résumés par Foster, 1949), la formation d'urée dans les champignons, dépendrait d'un excès de nutrition azotée intermédiaire et de l'absence ou d'un défaut d'hydrates de carbone: l'urée ne s'accumulerait que dans les champignons cultivés sur un milieu riche en azote et constituerait ainsi une réserve d'azote, dans l'attente de conditions favorables pour son utilisation dans les processus de croissance; les champignons cultivés sur milieu dépourvu de source azotée ou seulement à base d'hydrates de carbone, ne produiraient pas d'urée; la formation d'urée serait donc consécutive à un processus d'autolyse.

Pour Reinbothe et al. (1967), l'urée, dans les carpophores de *A. bisporus*, serait un produit final du catabolisme et non une forme de substrat azoté, comme cela semble être le cas chez *Lycoperdon pyriforme*; en effet, dans les carpophores de ces deux espèces, l'existence de l'uréase - enzyme catalysant l'hydrolyse de l'urée en gaz carbonique et en ammonium - a été démontrée, mais en ce qui concerne *A. bisporus*, il n'a pas pu être prouvé que l'azote de l'urée est réassimilé au cours de la synthèse protéique liée à la sporogénèse.

Une hypothèse plus récente proposée par Moore (1984) suggère, chez les Basidiomycètes ayant un cycle de l'urée fonctionnel, un contrôle de la morphogénèse *via* l'activité de l'uréase: les faibles teneurs d'urée dans le stipe de *Coprinus cinereus* seraient corrélées avec la forte activité de l'uréase dans cette même partie du champignon, la réciproque étant observée dans le piléus. Selon l'auteur, l'activité accrue de l'uréase entraînerait la production de gaz carbonique, composé connu pour son action positive sur la croissance du stipe chez *A. bisporus* (Flegg & Wood, 1985). Par ailleurs, dans



l'hyménium de *C. cinereus*, la concentration d'urée (bien que plus élevée que dans le reste du carpophore) reste pratiquement inchangée par rapport au poids de tissu frais, ce qui pourrait signifier que l'urée y exerce une fonction osmotique, à l'image de celle du mannitol dans les parties stériles du carpophore de *A. bisporus*.

La confirmation d'une telle hypothèse implique, selon Moore (1984), la recherche des facteurs internes qui gouvernent l'amplification spécifique du cycle de l'urée dans les piléus des carpophores en cours de croissance; cela permettrait également de comprendre pourquoi l'urée a tendance à s'accumuler dans les carpophores de *A. bisporus* après la cueillette (Hammond, 1979 a).

#### *Etude de la fraction azotée insoluble*

Parmi les composés de la fraction insoluble de l'azote (*i.e.* sous forme polymérisée), les protéines sont sans doute ceux qui ont été les mieux étudiés dans le carpophore de *A. bisporus*. En effet, peu de données sont disponibles en ce qui concerne le métabolisme des autres polymères azotés, chitine et acides nucléiques principalement.

#### \* Protéines:

Du point de vue qualitatif, la composition en acides aminés des protéines du carpophore est très voisine de celle de la fraction  $\alpha$ -aminée libre; elle peut varier selon la nature de la souche mycélienne (Weaver et al., 1977; Bakowski et al., 1986 b) et/ou selon la nature des composés azotés ajoutés au compost (Delmas & Poitou, 1965; Kissmeyer-Nielsen et al., 1966; Kosson & Bakowski, 1984; Bakowski et al., 1986 a). Les acides aminés les plus fréquents dans les protéines sont l'acide glutamique, l'acide aspartique, l' $\alpha$ -alanine, la proline, la leucine et la lysine (Maggioni et al., 1968; Latché, 1970; Hayes & Haddad, 1976; Weaver et al., 1977). D'après Latché (1970), les acides aminés tels que le glycofolle, la thréonine, la valine, la leucine, l'isoleucine, l'histidine, la phénylalanine et la tyrosine, qui occupent une faible part des acides aminés libres, semblent occuper une place relativement plus importante dans les protéines.

Du point de vue quantitatif, les protéines du carpophore renfermeraient près de 90 % de l'azote insoluble du carpophore - en utilisant l'acide trichloracétique comme défécant (Latché, 1970); si l'on considère que ces protéines représentent en moyenne 25 % du poids de matière sèche (en se basant sur les données de Weaver et al., 1977) et qu'elles contiennent environ 12 % d'azote (Fitzpatrick et al., 1946), alors l'azote qu'elles renferment représenterait au total 3 % de la matière sèche du carpophore, soit 50 % de l'azote total du carpophore (en se basant sur une teneur en azote total de 6 % du poids de matière sèche; cf. Tab. I).

Les protéines cytoplasmiques (dites "solubles" car on peut les extraire par l'eau, contrairement aux protéines membranaires qui exigent le recours à des détergents) ne sont pas uniformément réparties dans le carpophore: à tous les stades de croissance, le piléus est plus riche en protéines solubles que le stipe, et en fin de croissance (stade 7), les lamelles recueillent deux fois plus de protéines que le stipe. Au cours du développement du

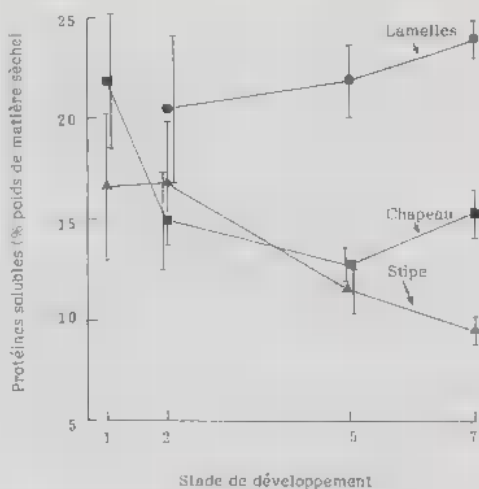


Figure 4 - Evolution du taux de protéines solubles dans les différentes parties du carpophore en développement (d'après Hammond & Nichols, 1976 a).

Figure 4 - Changes in soluble protein content in different parts of the developing sporophore (from Hammond & Nichols, 1976 a).

carpophore, le taux de protéines solubles (calculé par rapport au poids de matière sèche) diminue dans le stipe et la trame du pileus, tandis qu'il augmente dans les lamelles (Fig.4). Diverses explications à ces résultats peuvent être proposées:

- ou bien, comme l'ont suggéré Hammond & Nichols (1976 a), la baisse du taux de protéines solubles dans les parties stériles du carpophore relève d'un processus de migration de matériel cellulaire en direction des lamelles, confirmant par là-même les observations cytologiques de Vogel & Weaver (1972) - déjà mentionnées plus haut,

- ou bien, cette diminution est provoquée par un phénomène de protéolyse analogue à celui qui a été observé chez *Flammulina velutipes* (Chao & Gruen, 1987).

Des variations d'activité protéolytique intracellulaire se produisent au cours du développement du carpophore, chez *A. bisporus*, mais elles ne sont pas corrélées de façon positive avec celles du taux de protéines solubles, pendant les stades précoces de croissance: les résultats expérimentaux de Burton (1988) montrent, en effet, qu'entre les stades 2 et 5, il y a simultanément, diminution du taux de protéines solubles et de l'activité des protéases intracellulaires dans la cuticule et la trame du pileus. Pour Burton, la baisse des teneurs en protéines solubles au cours du développement précoce (les mesures étant exprimées par rapport au poids de matière fraîche et non de matière sèche) serait due à un phénomène de dilution, consécutif à une accumulation d'eau dans les hyphes du carpophore.

Cependant, au cours des stades ultimes du développement du carpophore (stades 5 à 7), un net accroissement de l'activité protéasique intracellulaire a été observé (Wood, 1979; Burton, 1988), qui pourrait être, selon Wood (1979), un moyen de diriger des peptides ou des acides aminés vers des régions où la synthèse protéique est active, les lamelles en particulier.

#### \* Chitine:

La chitine, qui représente entre 0,5 et 0,6 % du poids de matière fraîche du carpophore chez *A. bisporus* (Manning, 1985), est le constituant structural de base de la paroi des hyphes et de celle des spores chez la plupart des champignons; c'est un polymère non ramifié de la N - acétyl - D - glucosamine, qui forme, avec son dérivé désacétylé, le chitosane (polymère de la D - glucosamine), des microfibrilles dont le rôle de soutien est tout-à-fait comparable à celui de la cellulose, chez les végétaux chlorophylliens (Crisan & Sands, 1978; Novaes-Ledieu & Mendoza, 1981).

Chez *A. bisporus*, la synthèse de chitine est catalysée par une enzyme présente dans le mycélium et les carpophores, la chitine synthase (ou chitine synthétase), dont les propriétés biochimiques sont très voisines de celles de la chitine synthase des autres champignons (Craig et al., 1981; Hänseler et al., 1983); la synthèse de chitine a lieu dans des vésicules cytoplasmiques appelées chitosomes (Bartnicki-Garcia et al., 1978).

L'activité de la chitine synthase est étroitement liée aux processus de croissance cellulaire, car l'application de Polyoxine D, inhibiteur de l'enzyme, bloque la croissance du mycélium et le développement du carpophore (Wood & Hammond, 1977); par ailleurs, Craig et al. (1981) ont constaté que la chitine synthase est plus active dans la région supérieure du stipe - où l'allongement cellulaire est maximal - que dans la région basale du stipe.

#### \* Acides nucléiques:

Les acides désoxyribonucléiques (ADN) et ribonucléiques (ARN) représentent à eux-deux près de 3 % du poids de matière sèche du carpophore (Li & Chang, 1982); la teneur en ADN des noyaux est faible, comparée à celle des autres Eucaryotes, ce qui est une caractéristique générale des champignons (Arthur et al., 1982).

Il existe une évolution différentielle des teneurs en acides nucléiques des différentes parties du carpophore en cours de croissance qui reflète, comme c'est le cas avec les hydrates de carbone non structuraux ou les protéines solubles, des différences d'activité métabolique: les teneurs en ADN et ARN du stipe et de la trame du piléus ne montrent pas de changements majeurs, alors que celles des lamelles augmentent fortement au cours du développement du carpophore; le taux d'ARN des lamelles (exprimé en pourcentage du poids de "tissu" sec) augmente de façon continue entre les stades 1 (primordium) et 8 (sènescent), et leur taux d'ADN double entre les stades 2 ("bouton") et 3 ("coupe fermée"), période qui pourrait correspondre à la méiose ou aux divisions post-méiotiques associées à la sporogénèse (Minamide & Hammond, 1985). Il est à noter que ces obser-

vations ne concernent que les carpophores émergeant du compost en phase (*i.e.* pendant une même volée). Dans les lamelles des carpophores émergeant en dehors des volées, les taux d'acides nucléiques stagnent (ADN) voire diminuent (ARN), sans doute, d'après les auteurs, sous l'effet des variations intervenant dans la disponibilité du substrat au cours du cycle de fructification - épuisement du compost et compétition entre carpophores.

## MODIFICATIONS BIOCHIMIQUES LIÉES AU PHÉNOMÈNE DES VOLÉES

### I- Généralités

Le champignon de couche, comme plusieurs champignons supérieurs, est caractérisé par une fructification périodique: au cours du cycle de récolte - étalé sur 40 jours environ, à compter de l'apparition des premiers carpophores - vont se succéder tous les 6-12 jours, 5 à 6 poussées successives de carpophores appelées **volées**, d'une durée de 3 à 6 jours chacune. En général, la deuxième volée (voire la troisième) est la plus productive, à la fois en nombre et en poids de carpophores; ensuite, les rendements baissent progressivement et la fructification cesse lorsque le substrat est complètement épuisé (Fig. 5).

Les modifications de la qualité des champignons d'une volée à l'autre sont un fait bien connu des producteurs: elles reflètent les changements biochimiques qui se produisent dans les carpophores tant au niveau du métabolisme azoté que carboné.

L'étude des modifications biochimiques en rapport avec le phénomène des volées présente un intérêt particulier au plan fondamental; en effet, une connaissance approfondie du métabolisme des carpophores s'impose si l'on

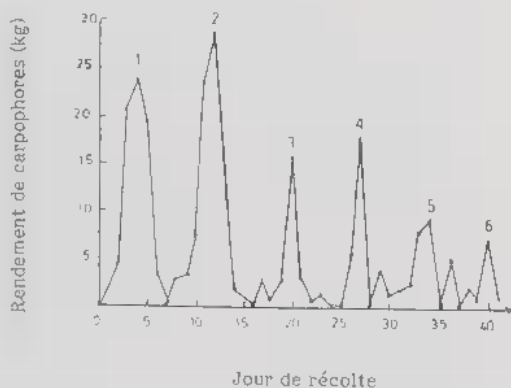


Figure 5 - Représentation d'un cycle de fructification d'*Agaricus bisporus* (d'après Speroni et al., 1983). Chaque pic numéroté représente une volée.

Figure 5 - Example of ■ fruiting cycle of *Agaricus bisporus* (from Speroni et al., 1983). Each numbered peak represents a flush.

veut élucider les facteurs internes et externes qui gouvernent le cycle de fructification du champignon. Les recherches effectuées dans ce sens, notamment par Hammond et ses collaborateurs, ont permis d'avancer certaines hypothèses en ce qui concerne le déterminisme du rythme de fructification d'*Agaricus bisporus*.

## 2- Influence des volées sur quelques constituants du carpophore

### *Cas des composés azotés*

D'une façon générale, les carpophores issus des 2ème et 3ème volées sont caractérisés par un optimum du taux d'azote total (Bakowski et al., 1986 a); les teneurs élevées de ce taux relèvent à la fois d'une augmentation du taux d'azote protéique (Kissmeyer-Nielsen et al., 1966; Latché, 1970; Kosson & Bakowski, 1984) et du taux d'azote soluble (Latché, 1970). Latché (1970) rapporte que le taux d'azote insoluble (*i.e.* précipitant dans l'acide trichloracétique à 10 %) reste inférieur à celui d'azote soluble tout au long du cycle de fructification, la différence tendant par ailleurs à s'accroître en fin de cycle.

Le niveau total des acides aminés des protéines subit des variations sensibles d'une volée à l'autre, la 3ème volée étant généralement la plus riche (Baldy et al., 1967; Latché, 1970).

Au plan qualitatif, la composition centésimale en acides aminés des protéines reste relativement stable (Baldy et al., 1967; Maggioni et al., 1968; Latché, 1970); cependant, certains auteurs ont noté une baisse du taux de lysine (Maggioni et al., 1968; Bakowski et al., 1986 a) et une augmentation du taux d'arginine (Hughes & Rhodes, 1959). Hughes et al. (1958) et Paranjpe et al. (1978) ont remarqué une chute du taux de tyrosine en fin de cycle de culture, contredisant en apparence les résultats de Kissmeyer-Nielsen et al. (1966). Baldy et al. (1967) et Maggioni et al. (1968), qui rapportent une multiplication par un facteur 3 du taux de cet acide aminé entre les 1ère et 3ème volées; selon Hughes et al. (1958), la plus forte teneur en tyrosine des carpophores issus des volées précoces pourrait expliquer la plus grande sensibilité de ceux-ci au brunissement après récolte: la tyrosine - bien que cela soit remis en question par Rast et al. (1981) - est reconnue pour être un des substrats naturels de la tyrosinase, enzyme produite par le champignon en phase de fructification (Turner, 1974), qui catalyse la synthèse des pigments (mélanines) responsables du brunissement des couches externes - et également des lamelles - dans les carpophores mûrs et les jeunes carpophores fraîchement récoltés.

En ce qui concerne la fraction azotée soluble, on ne dispose de données que sur les acides aminés libres, l'urée et les formes inorganiques d'azote.

Comme c'est le cas pour la teneur en protéines, la teneur globale en acides aminés libres atteint son optimum dans les carpophores de 3ème volée. Latché (1970) a cependant constaté des variations très nettes des teneurs relatives de certains constituants de la fraction  $\alpha$ -aminée libre:

- les taux d'acide aspartique et d' $\alpha$ -alanine sont optimaux dans les carpophores de 2ème volée,

- en 3ème volée, il y a accumulation de proline, d'arginine et, à un moindre degré, de sérine, thréonine,  $\gamma$ -aminobutyrate (GABA) et glycine,

- le taux de méthionine sulfoxyde est optimum en 4ème volée,

- les taux de lysine et d'ornithine diminuent au cours des volées successives - ce qui peut être mis en parallèle avec l'augmentation du taux d'arginine, dont l'ornithine constitue le précurseur (cf le cycle de Krebs-Henseleit),

- enfin, les amides libres, asparagine, glutamine et urée, sont en concentration maximum dans les carpophores des 2ème et 4ème volées, où elles représentent plus de 40 % de l'azote soluble.

L'acide glutamique, qui demeure le plus abondant de tous les acides aminés libres dosés (Latché, 1970) dans les carpophores de 1ère et 3ème volées, voit sa teneur relative baisser dans les carpophores de 3ème volée.

Les résultats obtenus par Latché (1970) concordent avec ceux de Kissmeyer-Nielsen et al. (1966), Baldy et al. (1967) et Maggioni et al. (1968) en ce qui concerne l'accumulation de proline (en 3ème volée) et d'urée (en 2ème volée), et également avec ceux de Hughes & Rhodes (1959) et Paranjpe et al. (1978) en ce qui concerne la baisse des taux de tyrosine et de phénylalanine dans les carpophores issus des dernières volées.

Les taux de nitrates et de nitrites des carpophores - relativement bas par rapport à ceux de certains végétaux (soit de l'ordre de 0,1 mg/100 g, pour les nitrites, et 5 mg/100 g de matière fraîche pour les nitrates) - auraient tendance à augmenter en fin de cycle de fructification, selon Bakowski et al. (1986 a).

Si l'on ne peut tirer de règle générale quant aux fluctuations du niveau de certains composés azotés des carpophores au cours du cycle de fructification, c'est sans doute parce qu'il existe une relation étroite entre la composition du compost et celle des carpophores. En effet, la nature et la concentration de la source azotée fournie au champignon peut avoir une influence notable, en particulier sur la composition de la fraction azotée soluble. Delmas & Poitou (1965) rapportent que l'addition d'acide glutamique au compost entraîne une augmentation générale du niveau des acides aminés libres du carpophore - acide glutamique compris -, tandis que l'addition d'asparagine a les effets inverses. La supplémentation du compost avec des mélanges complexes tels que la gélatine ou l'hydrolysate de caséine, entraîne des modifications dont les plus importantes portent sur les teneurs en acide aspartique, acide glutamique, glyco-colle, sérine, proline, histidine et urée (Kissmeyer-Nielsen et al., 1966). La nature même du compost joue un rôle important: à titre d'exemple, les carpophores poussés sur compost à base de fumier de cheval ont des teneurs en nitrates et en nitrites deux fois plus faibles que les carpophores de même âge et de même souche poussés sur compost à base de lisier de poulet (Bakowski et al., 1986 a).



Ainsi, comme le souligne Latché (1970), il existerait en fonction du phénomène des volées, des variations, soit dans la perméabilité aux substances dissoutes, soit dans le déroulement de certains processus métaboliques.

L'activité des transaminases qui donnent naissance à un certain nombre d'acides aminés, est accrue dans les volées où ces mêmes acides aminés sont en plus forte concentration à l'état libre - en général, la 3ème volée: cela pourrait expliquer, en grande partie, l'observation selon laquelle les acides cétoniques qui servent de substrat aux transaminases (glyoxylate, pyruvate, hydroxypyruvate, oxalacétate,  $\alpha$ -cétoglutarate et phénylpyruvate), sont en concentration plus faible dans les carpophores de 3ème volée que dans ceux de 1ère et 2ème volées (Latché, 1970). L'accumulation de certains acides aminés libres dans les carpophores, au cours du cycle de récolte, pourrait donc être attribuée, au moins en partie, à une augmentation des processus de biosynthèse - cas de l'arginine, qui est issue du cycle de l'ornithine, elle-même dérivant de l'acide glutamique. Pour d'autres acides aminés, tels la proline, l'accumulation observée pourrait relever d'une élévation du taux d'absorption du composé à partir du compost (Latché, 1970).

#### *Cas des hydrates de carbone solubles*

Comme cela a été observé avec certains métabolites azotés, les modifications du niveau de certains hydrates de carbone solubles du carpophore en rapport avec le phénomène des volées, dépendent plus ou moins de la nature du compost. Le taux de tréhalose augmente fortement entre la 1ère et la 6ème volée dans les carpophores cultivés sur compost à base de fumier de cheval, tandis qu'il fluctue de façon irrégulière dans les carpophores formés sur compost à base de fumier de plumes de poule grillées; le taux de glucose, qui reste quasiment constant au cours du cycle de récolte, dans les carpophores développés sur fumier de cheval, fluctue entre les différentes volées (en marquant un maximum dans les carpophores des 2ème et 5ème volées), sur fumier de plumes de poule; quant au mannitol, il a tendance à s'accumuler en plus forte concentration dans les carpophores des 5ème et 6ème volées, et ce, quelle que soit la nature du compost (Bakowski et al., 1986 c).

### **3- Rôle du métabolisme hydrocarboné dans le déterminisme des volées**

Si l'on cerne mieux aujourd'hui la nature des facteurs qui déterminent le processus des volées chez *Agaricus bisporus*, c'est en grande partie grâce aux progrès considérables réalisés dans la connaissance du métabolisme des hydrates de carbone du champignon.

Une voie de recherche a été ouverte par Parrish et al. (1976), qui ont démontré l'existence d'une relation directe entre la teneur en mannitol des carpophores récoltés pendant une volée et le rendement de la volée. Les résultats, obtenus avec d'autres composés par différents auteurs, permettent à présent d'avoir une représentation éloquentes des événements métaboliques en rapport avec le phénomène des volées (Fig. 6):

- avant le départ de la volée, il y a accumulation de tréhalose et de glycogène dans les initiales de carpophores encore à l'état dormant

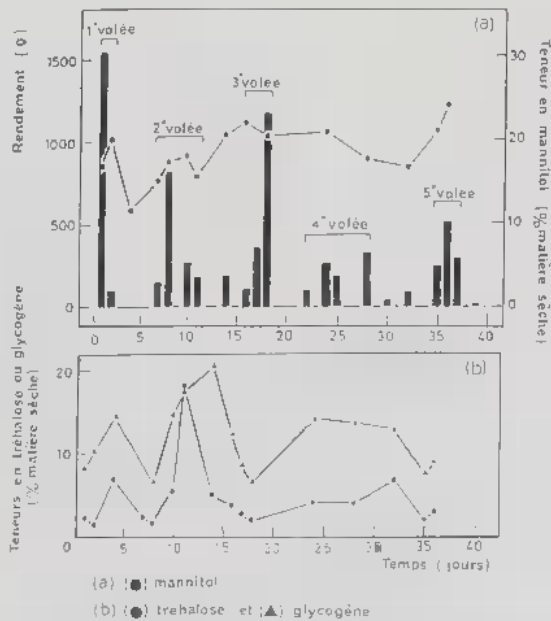


Figure 6 - Evolution, au cours d'un cycle de récolte, des teneurs en mannitol (a), tréhalose et glycogène (b) dans des carpophores de stade 2 issus d'un même plateau de compost (d'après Hammond & Nichols, 1979).

Figure 6 - Changes, during a cropping cycle, in mannitol (a), trehalose and glycogen (b) content in sporophores from stage 2 grown on the same tray of compost (from Hammond & Nichols, 1979).

(Hammond & Nichols, 1979) et parallèlement, on observe une activité minimale de la glycogène phosphorylase et de la tréhalase (Hammond, 1986; Wells et al., 1987); il semble que les niveaux cumulés des deux hydrates de carbone déterminent le rendement de la volée à venir; par ailleurs, à ce stade, le mannitol est à son niveau minimum,

- pendant la croissance de la volée, on observe un affaiblissement des teneurs en tréhalose et en glycogène, sans doute en réponse aux besoins énergétiques accrus des carpophores (Hammond & Nichols, 1979); les activités de la tréhalase et de la glycogène phosphorylase sont alors maximales (Hammond, 1986; Wells et al., 1987); l'accumulation de mannitol dans les carpophores s'accompagne d'une élévation de la teneur en eau de ceux-ci, d'où l'accroissement considérable de la biomasse (Hammond & Nichols, 1979),

- après la récolte de la volée, la demande en hydrates de carbone est considérablement réduite, et il faut alors attendre un certain laps de temps avant l'émergence de la volée suivante (durée d'une inter-volée) pour que les niveaux des hydrates de carbone retournent à leurs valeurs initiales (Hammond & Nichols, 1979).



Parallèlement à ces observations, il a été constaté un changement dans l'équilibre des voies d'oxydation des hexoses au cours du cycle de fructification: Hammond (1981, 1986) rapporte en effet, que l'activité de la glucose-6-phosphate déshydrogénase, enzyme-clef de la voie des hexoses monophosphates (HMP), est 20 fois plus élevée dans les carpophores de stade 2 récoltés en début de volée, que dans ceux récoltés au même stade en milieu de volée; l'augmentation d'activité des enzymes de la voie des HMP, permettant la production de NADP réduit, donc la synthèse du mannitol (activité de la mannitol déshydrogénase), assurerait ainsi le démarrage de la volée.

Chanter (1979) a proposé un modèle mathématique rendant compte des événements métaboliques survenant au cours du cycle de fructification: l'auteur suggère qu'un substrat hypothétique est absorbé et accumulé par le mycélium jusqu'à ce qu'un certain niveau-seuil soit atteint et permette l'initiation des carpophores; la croissance de la volée entraînerait alors une diminution des réserves de substrat intramycélien en-dessous du niveau-seuil, empêchant ainsi l'émergence d'une nouvelle volée; après la récolte, le substrat en question pourrait à nouveau s'accumuler et initier une nouvelle volée.

Le tréhalose et le glycogène paraissent se comporter comme le substrat hypothétique de Chanter, si l'on s'en tient aux seuls résultats de Hammond & Nichols (1979). Cependant, les résultats plus récents de Claydon et al. (1988) semblent indiquer qu'on a affaire à un modèle plus complexe. En effet, il est quasiment prouvé que le glycogène et le tréhalose sont synthétisés par le champignon à partir des sucres relargués dans le compost *via* l'activité de certaines hydrolases extracellulaires, notamment celle de l'endocellulase - enzyme catalysant l'hydrolyse en glucose des constituants celluloseux du compost. Or, contrairement à l'hypothèse de Chanter, les résultats expérimentaux de Claydon et al. démontrent que:

- le prélèvement d'hydrates de carbone par le champignon ne semble pas être un processus à vitesse constante: à chaque volée, correspond un pic d'activité de l'endocellulase, l'activité de l'enzyme étant par ailleurs directement proportionnelle à la biomasse produite,

- il semble qu'il n'y ait pas de gros changements de la biomasse mycélienne dans le compost, donc des réserves en substrat intramycélien, au moment de la fructification - comme cela a été montré chez *Flammulina velutipes* - puisqu'à ce stade, le mycélium est en limitation de croissance.

Ainsi, comme le suggèrent Claydon et al., l'activité des enzymes assurant l'apport carboné vers le mycélium, serait régulée par la biomasse des carpophores; ce mécanisme permettrait d'établir un équilibre entre les dépenses d'hydrates de carbone pendant la construction des carpophores et les apports *via* l'activité des hydrolases extracellulaires.

Si la preuve est donnée que le champignon de couche, comme d'autres Basidiomycètes saprophytes, peut réguler l'activité de certaines enzymes extracellulaires pendant la morphogenèse des carpophores, la nature exacte de la régulation reste, en revanche, à déterminer. En ce qui concerne l'activité de l'endocellulase extracellulaire d'*Agaricus bisporus*, il est possible,

comme le suggère Wood (1985) - faisant référence aux travaux de Hammond - que la régulation soit exercée par les niveaux intramycéliens d'hydrates de carbone solubles tels que ceux du glucose ou du tréhalose; les changements de concentration en sucres dans le mycélium, dus à l'exportation de ceux-ci vers les carpophores en développement, pourraient constituer un mécanisme de contrôle de la production de l'enzyme: en effet, l'endocellulase de *A. bisporus* appartient au type de cellulases fongiques induites par la cellulose (substrat) et à répression catabolique (Manning & Wood, 1983).

L'activité de la laccase - phénoloxydase majeure excrétée dans le compost par le mycélium - suit le modèle inverse de celui de l'endocellulase: l'activité de l'enzyme augmente jusqu'à l'émergence de la première volée de carpophores puis diminue ensuite rapidement (Turner, 1974; Wood & Goodenough, 1977). La perte d'activité de la laccase, due semble-t-il, à une inactivation suivie par une dégradation, pourrait correspondre à une réassimilation des acides aminés de la protéine par le champignon, étant donné que celle-ci représente 2 % des protéines mycéliennes, soit 0.7 % de la biomasse fongique (Wood, 1980 a, b); selon une autre hypothèse - ne contredisant pas forcément la précédente -, l'inactivation de la laccase au moment de la fructification permettrait de lever l'inhibition exercée éventuellement sur le développement des carpophores par certains produits de l'activité enzymatique, incluant des quinones - d'où un rôle possible de la laccase dans l'induction de la fructification.

En conclusion, le modèle développé par Chanter (1979) a ouvert de nouvelles perspectives de recherche dans l'étude des facteurs contrôlant le phénomène des volées. Il est aujourd'hui admis qu'une régulation de la biomasse des carpophores s'opère *via* les réserves de substrat stockées dans le mycélium - hydrates de carbone solubles essentiellement. Cependant, le modèle n'explique pas le caractère endogène du rythme de fructification du champignon; il a en effet été constaté qu'en l'absence de cueillette, la production de carpophores conserve sa périodicité, les volées étant toutefois très espacées dans le temps et la biomasse (en nombre de carpophores) considérablement réduite; la cueillette des carpophores résulte en une accélération du rythme de fructification, accompagnée d'une augmentation du rendement des volées, l'accélération étant d'autant plus grande que le stade de maturité des carpophores à la récolte est plus précoce (Cooke & Flegg, 1965). L'hypothèse selon laquelle une (ou plusieurs) substance(s) inhibitrice(s) serai(en)t émise(s) par les spores des champignons ou le mycélium dans le compost (Cooke & Flegg, 1965) reste tout-à-fait plausible - bien qu'elle n'ait pas été confirmée à ce jour -, et elle ne contredit pas celle d'une régulation ultime de la croissance des volées par les niveaux endogènes d'hydrates de carbone solubles.

## CONCLUSION

Grâce à l'amélioration considérable des techniques d'observation et d'analyse, on est en mesure aujourd'hui, de prédire les grands changements de la composition biochimique des carpophores d'*Agaricus bisporus* liés aux processus de croissance et au phénomène des volées.

Cependant, certaines questions fondamentales restent encore sans réponse, sans doute, dans une large mesure, à cause des difficultés techniques rencontrées dans la maîtrise de la fructification du champignon *in vitro* (*i.e.* sur milieu axénique, défini). Une fois ce problème résolu, on pourra explorer de façon plus approfondie et surtout plus rationnelle, les interactions champignon - substrat, et ainsi mieux comprendre les mécanismes physiologiques et métaboliques de la reproduction sexuée du champignon.

Ces recherches doivent naturellement trouver des applications pratiques: amélioration de la valeur nutritive et gustative des champignons, contrôle du phénomène de brunissement après récolte ou, pourquoi pas, production de substances d'intérêt pharmaceutique, phytosanitaire ou autre... Une chose est sûre néanmoins: les progrès dans la gestion du rendement et de la qualité des récoltes, ne pourront se faire sans l'appui d'une solide connaissance fondamentale de la biologie, et plus précisément, de la biochimie du champignon.

#### REMERCIEMENTS

J'adresse tous mes remerciements au Professeur Noël ARPIN, Directeur du Laboratoire, qui m'a suggéré l'idée de cette publication et qui a accepté de critiquer, de façon constructive, mon manuscrit.

#### BIBLIOGRAPHIE

- ABOU-HEILAH A.N., KASSIM M.Y. and KHALIEL A.S., 1987 - Chemical composition of the fruiting bodies of *Agaricus bisporus*. *Phyton (Horn)* 47: 63-68.
- ALTAMURA M.R., ROBBINS R.M., ANDREOTTI R.E., LONG L. Jr. and HASSELSTROM T., 1967 - Mushroom ninhydrin-positive compounds. Amino acids, related compounds and other nitrogenous substances found in cultivated mushroom, *Agaricus campestris*. *J. Agric. Food Chem.* 15: 1040-1043.
- ANDERSON E.E. and FELLERS C.R., 1942 - The food value of mushrooms (*Agaricus campestris*). *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 41: 301-304.
- ARTHUR R., HERR F., STRAUS N., ANDERSON J. and HORGEN P., 1982 - Characterization of the genome of the cultivated mushroom, *Agaricus brunnescens*. *Exp. Mycol.* 7: 127-132.
- BAKOWSKI J. and KOSSON R., 1985 - Nutritional value and amino acid composition of the mushroom (*Agaricus bisporus*) at different stages of its development. *Acta Agrobot.* 38: 103-113.
- BAKOWSKI J., KOSSON R. and MICHALIK H., 1986 a - The influence of flushes on some constituents of mushrooms (*Agaricus bisporus*) cultivated on different composts. *Ibidem* 39: 99-110.
- BAKOWSKI J., KOSSON R. and HORBOWICZ M., 1986 b - Nutritional values of different strains of mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Ibidem* 39: 111-121.
- BAKOWSKI J., SZUDYGA K., HORBOWICZ J.C. and CZAPSKI J., 1986 c - The influence of compost on carbohydrates and minerals content in the mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Ibidem* 39: 85-97.
- BALDY P., 1975 - Métabolisme du  $\gamma$ -aminobutyrate chez *Agaricus bisporus*. I. La L-glutamate-l-carboxylyase. *Physiol. Pl.* 34: 365-372.

- BALDY P., 1976 - Métabolisme du  $\gamma$ -aminobutyrate chez *Agaricus bisporus*. II. La  $\gamma$ -aminobutyrate:  $\alpha$ -cétoglutarate aminotransférase. *Planta* 130: 275-281.
- BALDY P., 1977 - Métabolisme du  $\gamma$ -aminobutyrate chez *Agaricus bisporus*. III. La succinate-semialdéhyde: NAD(P)<sup>+</sup> oxydoréductase. *Physiol. Pl.* 40: 91-97.
- BALDY P., PIQUEMAL M. et LATCHE J.-C., 1967 - Variations du bilan azoté des acides aminés libres et constitutifs des protéines au cours des différentes volées d'une culture d'*Agaricus campestris* Fr. var. *bisporus*. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci., Sér. D.*, 265: 1709-1712.
- BARTNICKI-GARCIA S., BRACKER C.E., REYES E. and RUIZ-HERRERA S., 1978 - Isolation of chitosomes from taxinomically diverse fungi and synthesis of microfibrils *in vitro*. *Exp. Mycol.* 2: 173-192.
- BRUNEL A., 1936 - Le métabolisme de l'azote d'origine purique chez les champignons. Thèse Doct., Univ. Paris, France.
- BURTON K.S., 1988 - The effects of storage and development on *Agaricus bisporus* proteases. *J. Hort. Sci.* 63: 103-108.
- BYRNE A.R., DEMELJ M. and VAKELJ T., 1979 - Silver accumulation by fungi. *Chemosphere* 8: 815-821.
- BYRNE P.F.S. and BRENNAN P.J., 1975 - The lipids of *Agaricus bisporus*. *J. Gen. Microbiol.* 89: 245-255.
- CASIMIR J. et HEINEMAN P., 1953 - Contribution à l'étude du métabolisme azoté chez les champignons. Nutrition du mycélium d'*Agaricus hortensis* var. *alba* au moyen de différents acides aminés. *Mushroom Sci.* 2: 21-26.
- CHANTER D.O., 1979 - Harvesting the mushroom crops: a mathematical model. *J. Gen. Microbiol.* 115: 79-87.
- CHAO E.M. and GRUEN H.E., 1987 - Intracellular activity of mycelial proteinases during fruit-body development in *Flammulina velutipes*. *Canad. J. Bot.* 65: 518-525.
- CLAYDON N., ALLAN M. and WOOD D.A., 1988 - Fruit body biomass regulated production of extracellular endocellulase during periodic fruiting by *Agaricus bisporus*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 90: 85-90.
- COOKE D. and FLEGG P.B., 1965 - The effect of stage of maturity at picking on the flushing of crops of the cultivated mushroom. *J. Hort. Sci.* 40: 202-212.
- CRAIG G.D., WOOD D.A. and GULL K., 1981 - Chitin synthase in the stipe of *Agaricus bisporus* (J. Lange) Imbach. *FEMS Microbiol. Lett.* 10: 43-47.
- CRISAN E.V. and SANDS A., 1978 - Nutritional Value. In: CHANG S.T. & HAYES W.A., *The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms*. New York & London, Academic Press: 137-168.
- CRONIN D. and WARD M., 1971 - The characterization of some mushroom volatiles. *J. Sci. Food Agric.* 22: 477-479.
- DELMAS J. et POITOU N., 1965 - Les substances azotées et plus particulièrement les acides aminés dans les champignons et les composts. *Mushroom Sci.* 6: 193-201.
- DIEM K. and LENTNER C., 1970 - *Documenta Geigy Scientific Tables*, 7ème éd. Bâle, J.R. Geigy: 504-505.
- DÜTSCH G.A. and RAST D., 1972 - Biochemische Beziehung zwischen Mannitbildung und Hexosemonophosphatzyklus in *Agaricus bisporus*. *Phytochemistry* 11: 2677-2681.

- ELLIOTT T.J., 1985 a - The General Biology of the Mushroom. In: P.B. FLEGG, D.M. SPENCER & D.A. WOOD., *The Biology and Technology of the Cultivated Mushroom*. Chichester, J. Wiley & Sons Ltd: 9-22.
- ELLIOTT T.J., 1985 b - The Genetics and Breeding of Species of *Agaricus*. *Ibidem* 111-129.
- ENKE M., ROSCHIG M., MATSCHINER H. and ACHTZEHN M.K., 1979 - Uptake of lead, cadmium and mercury by cultivated mushrooms. *Nahrung* 23: 731-737.
- FILIOS A.M. and ESSELEN W.B., 1946 - The riboflavin, nicotinic acid, panthotenic acid and biotin content of canned and cooked fresh mushrooms. *J. Amer. Diet. Assoc.* 22: 772-777.
- FITZPATRICK W.H., ESSELEN W.B. and WEIR E., 1946 - Composition and nutritive value of mushroom protein. *Ibidem*, 22: 318-323.
- FLEGG P.B. and WOOD D.A., 1985 - Growth and Fruiting. In: P.B. FLEGG, D.M. SPENCER & D.A. WOOD, *The Biology and Technology of the Cultivated Mushroom*. Chichester, J. Wiley & Sons Ltd: 141-177.
- FOSTER J.W., 1949 - Urea metabolism of fungi. In: J.W. FOSTER, *Chemical Activities of Fungi*. New York, Academic Press: 518-525.
- FUJII S., KITANO K. and NODA M. 1982 - The sphingolipids of *Agaricus bisporus*. *Agric. Biol. Chem.* 46: 1717-1719.
- GAZE R.H., 1985 - Cultivation Systems and their Evolution. In: P.B. FLEGG, D.M. SPENCER & D.A. WOOD. *The Biology and Technology of the Cultivated Mushroom*. Chichester, J. Wiley & Sons Ltd: 23-41.
- GERRITS J.P.J., 1969 - Organic compost constituents and water utilised by the cultivated mushroom during spawn run and cropping. *Mushroom Sci.* 7: 111-126.
- GOULSTON G., MERCER E.I. and GOAD J.L., 1975 - The identification of 24-methylene -24,25-dihydrolanosterol and other possible ergosterol precursors in *Phycomyces blakesleeanus* and *Agaricus campestris*. *Phytochemistry* 14: 457-462.
- GRIFFIN P.F.S., BRENNAN P.J. and LÖSEL D.M., 1970 - Free lipids and carbohydrates of *Agaricus bisporus* mycelium. *Biochem. J.* 119: 11-12.
- GROVE J.F., 1981 - Volatile compounds of the mushroom *Agaricus bisporus*. *Phytochemistry* 20: 2021-2022.
- HAMMOND J.B.W., 1977 - Carbohydrate metabolism in *Agaricus bisporus*: oxidative pathways in mycelium and sporophore. *J. Gen. Microbiol.* 102: 245-248.
- HAMMOND J.B.W., 1979 a - Changes in composition of harvested mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Phytochemistry* 18: 415-418.
- HAMMOND J.B.W., 1979 b - The role of non-structural carbohydrates in the life cycle of *Agaricus bisporus*. *Mushroom Sci.* 10: 391-400.
- HAMMOND J.B.W., 1981 - Variation in enzyme activity during periodic fruiting of *Agaricus bisporus*. *New Phytol.* 89: 419-428.
- HAMMOND J.B.W., 1985 a - Glucose-6-phosphate dehydrogenase from *Agaricus bisporus*: purification and properties. *J. Gen. Microbiol.* 131: 321-328.
- HAMMOND J.B.W., 1985 b - Sugar, sugar phosphate and NADP(H) levels in *Agaricus bisporus* fruit bodies. *Ibidem* 131: 329-333.

- HAMMOND J.B.W., 1986 - Carbohydrates and mushroom growth. *Mushroom J.* 165: 316-321.
- HAMMOND J.B.W. and NICHOLS R., 1975 - Changes in respiration and soluble carbohydrates during the post-harvest storage of mushrooms (*Agaricus bisporus*). *J. Sci. Food Agric.* 26: 835-842.
- HAMMOND J.B.W. and NICHOLS R., 1976 a - Carbohydrate metabolism in *Agaricus bisporus* (Lange) Sing.: changes in soluble carbohydrates during growth of mycelium and sporophore. *J. Gen. Microbiol.* 93: 309-320.
- HAMMOND J.B.W. and NICHOLS R., 1976 b - Glycogen in *Agaricus bisporus*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 66: 325-327.
- HAMMOND J.B.W. and NICHOLS R., 1979 - Carbohydrate metabolism in *Agaricus bisporus*: changes in non-structural carbohydrates during periodic fruiting (flushing). *New Phytol.* 83: 723-730.
- HÄNSELER E., NYHLEN I.E. and RAST D.M., 1983 - Isolation and properties of chitin synthase from *Agaricus bisporus* mycelium. *Exp. Mycol.* 7: 17-30.
- HASHIDA W., MOURI T., SHIGA I. and TERAMOTO S., 1964 - Studies on nucleic acid related substances in food stuffs.(II) Distribution of 5'- nucleotides in edible mushrooms. *Hakko Kagaku Zasshi* 42: 434-441.
- HAYES W.A. and HADDAD N.A., 1976 - The food value of the cultivated mushroom and its importance to the mushroom industry. *Mushroom J.* 40: 104-110.
- HAYES W.A. and HAND P., 1981 - Vitamin B12 in substrates and fruit bodies of *Agaricus bisporus*. *Mushroom Sci.* 11: 177-181.
- HAYES W.A. and NAIR N.G., 1975 - The Cultivation of *Agaricus bisporus* and Other Edible Mushrooms. In: J.E. SMITH & D.R. BERRY. *The Filamentous Fungi*. London, E. Arnold Ltd, 1: 212-248.
- HOLTZ R.B., 1971 - Qualitative and quantitative analyses of free neutral carbohydrates in mushroom tissue by gas-liquid chromatography and mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 19: 1272-1273.
- HOLTZ R.B. and SCHISLER L.C., 1971 - Lipid metabolism of *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. I. Analysis of sporophore and mycelial lipids. *Lipids* 6: 176-180.
- HUGHES D.H., 1962 - Preliminary characterization of the lipid constituents of the cultivated mushroom *Agaricus campestris*. *Mushroom Sci.* 5: 540-546.
- HUGHES D.H., LYNCH D.L. and SOMERS G.F., 1958 - Chromatographic identification of the amino acids and carbohydrates in the cultivated mushroom *Agaricus campestris* L. ex Fries. *J. Agric. Food Chem.* 6: 850-852.
- HUGHES D.H. and RHODES Y.E., 1959 - Changes in the amino acid composition of *Agaricus campestris* with respect to successive crops. *Mushroom Sci.* 4: 176-182.
- IWANOFF N.N., 1923 - Über den Harnstoffgehalt der Pilze. *Biochem. Z.* 136: 1-8.
- JADOT J., CASIMIR J. et RENART M., 1960 - Séparation et caractérisation du L(+)-(p-hydroxy)anilide de l'acide glutamique à partir de *Agaricus hortensis*. *Biochim. Biophys. Acta* 43: 322-328.
- KISSMEYER-NIELSEN E., Mc CLENDON J.H. and WOODMANSEE C.W., 1966 - Changes in amino acids and urea in the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*, as influenced by nutrient supplementation of the compost during the growth cycle. *J. Agric. Food Chem.* 14: 633-636.



- KONISHI M., 1967 - Growth promoting effect of certain amino acids on the *Agaricus* fruitbody. *Mushroom Sci.* 6: 121-134.
- KOSSON R. and BAKOWSKI J., 1984 - The effect of cultivation on the amino acid and protein content of the mushroom (*Agaricus bisporus* (Lange) Sing.). *Nahrung* 28: 1045-1051.
- KOSTELC J.G. and HENDRY L.B., 1981 - Hydrocarbon constituents from white strains of the mushroom *Agaricus bisporus* (Lange) Singer. *J. Agric. Food Chem.* 29: 185-186.
- KREß M., 1986 - Nährwert und Bedeutung der Kulturspeisepilze in der modernen Ernährung. *Champignon (Erlangen)* 299: 20-33.
- KRITSKII M.S. and KULAEV I.S., 1963 - Acid-soluble nucleotides of *Agaricus bisporus* L. fruiting bodies. *Biochemistry* 28(4): 570-564.
- LATCHE J.-C., 1963 - Biosynthèse, par transamination, de l'alanine, des acides aspartique et glutamique et sur l'existence de la glutamique décarboxylase chez *Agaricus campestris*. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci., Sér. D.* 257: 2145-2147.
- LATCHE J.-C., 1970 - Quelques aspects du métabolisme azoté du carpophore d'*Agaricus bisporus* Lge. Etude en fonction du phénomène des volées. Thèse Doct., Univ. Toulouse, France.
- LENDENMANN J. and RAST D., 1978 - Glycogen in spores and mycelium of *Agaricus bisporus*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 71: 146-148.
- LE ROUX P., 1966 - Métabolisme de l'acétate 2-<sup>14</sup>C dans le carpophore du champignon de couche (*Agaricus campestris* Fr. var. *bisporus*). *Ann. Physiol. Vég.* 8: 197-208.
- LE ROUX P., 1967 - Importance relative de la voie des pentoses phosphates et de la glycolyse dans le carpophore d'*Agaricus bisporus*. *Ibidem* 9: 349-363.
- LEVENBERG B., 1961 - Structure and enzymatic cleavage of agaritine, a phenylhydrazine of L-glutamic acid isolated from Agaricaceae. *J. Amer. Chem. Soc.* 83: 503-504.
- LEWIS D.H. and SMITH D.C., 1967 - Sugar alcohols in fungi and green plants. I. Distribution, physiology and metabolism. *New Phytol.* 66: 143-184.
- LI G.S.F. and CHANG S.T., 1982 - The nucleic acid content of some edible mushrooms. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 15: 237-240.
- MAGGIONI A., PASSERA C., RENOSTO F. and BENETTI E., 1968 - Composition of cultivated mushrooms (*Agaricus bisporus*) during the growing cycle as affected by the nitrogen source introduced in composting. *J. Agric. Food Chem.* 16: 517-519.
- MANACHERE G., 1988 - Regulation of sporophore differentiation in some Macromycetes, particularly in *Coprini*: an overview of some experimental studies, from fruiting initiation to sporogenesis. *Cryptogamie, Mycol.* 9: 291-323.
- MANNING K., 1985 - Food Value and Chemical Composition. In: P.B. FLEGG, D.M. SPENCER & D.A. WOOD. *The Biology and Technology of the Cultivated Mushroom*. Chichester, J. Wiley & Sons Ltd: 211-230.
- MANNING K. and WOOD D.A., 1983 - Production and regulation of extracellular endocellulase of *Agaricus bisporus*. *J. Gen. Microbiol.* 129: 1839-1847.
- Mc CONNELL J.E. and ESSELEN W.B., 1947 - Carbohydrates in cultivated mushrooms (*Agaricus campestris*). *Food Res.* 12: 118-121.

- MICHALENKO G.O., HOHL H.R. and RAST D., 1976 - Chemistry and architecture of the mycelial wall of *Agaricus bisporus*. *J. Gen. Microbiol.* 92: 251-262.
- MINAMIDE T. and HAMMOND J.B.W., 1985 - The influence of the periodic fruiting (flushing) cycle on the biochemical development of *Agaricus bisporus* sporophores. *New Phytol.* 100: 571-578.
- MOORE D., 1984 - Developmental biology of the *Coprinus cinereus* carpophore: metabolic regulation in relation to cap morphogenesis. *Exp. Mycol.* 8: 283-297.
- NGUYEN T.T., PALCIC M.M. and HADZIYEV D., 1988 - Enzymatic formation of nucleotides and the flavour enhancer 5'-GMP during vegetable processing. Proc. Int. Conf. 1987 "Bioflavour '87": 275-286.
- NOVAES-LEDIEU M. and MENDOZA C.G., 1981 - The cell wall of *Agaricus bisporus* and *Agaricus campestris* fruiting body. *Canad. J. Microbiol.* 27: 779-787.
- OKA Y., KIRIYAMA S. and YOSHIDA A., 1973 - Sterol composition of fruits, marine algae, tea, coffee and cocoa. *Food Sci. Technol. Abstr.* 6: 47.
- OKA Y., OGAWA T. and SASAOKA K., 1979 - Occurrence of L-saccharopine and  $\gamma$ -L-glutamylglycine in the mushroom *Agaricus bisporus*. *Agric. Biol. Chem.* 43: 1995-1996.
- OKA Y., OGAWA T. and SASAOKA K., 1980 - Occurrence of N-( $\gamma$ -L-glutamyl)-ethanolamine in the mushroom *Agaricus bisporus*. *Ibidem* 44: 1959-1960.
- OKA Y., TSUJI H., OGAWA T. and SASAOKA K., 1981 - Quantitative determination of free amino acids and their derivatives in the common edible mushroom *Agaricus bisporus*. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 27: 253-262.
- PARANIPE M.S., CHEN P.K. and JONG S.C., 1978 - Phenolic and other organic compounds in morphologically different tissues of *Agaricus bisporus*. *Trans. Mycol. Soc. Japan.* 19: 169-180.
- PARRISH G.K., BEELMAN P.B. and KNEEBONE L.R., 1976 - Relationship between yield and mannitol content during the crop cycle of cultivated mushrooms. *Hort. Sci.* 11: 32-33.
- PIQUEMAL M., 1970 - Sur le métabolisme de l'acide glutamique, source d'azote et de carbone pour le mycélium d'*Agaricus bisporus* Lge. Thèse Doct., Univ. Toulouse, France.
- PYYSALO H., 1976 - Identification of volatile compounds in seven edible fresh mushrooms. *Acta Chem. Scand., Ser. B.* 30: 235-244.
- PYYSALO H., 1978 - On the formation of the aroma of some northern mushrooms. *Mushroom Sci.* 10: 669-675.
- RAST D., STÜSSI H., HEGNAUER H. and NYHLEN L.E., 1981 - Melanins. In: G. TURIAN & H.R. HOHL, *The Fungal Spore: Morphogenetic Controls*. London, Academic Press: 501-530.
- REINBOTHE H. und TSCHIERSCHE B., 1962 - Harnstoff Metabolismus bei Basidiomyceten.I. Zur Harnstoffbiosynthese in *Agaricus bisporus* Lange und *Lycoperdon perlatum* Pers. *Flora* 152: 423-446.
- REINBOTHE H., WASTERNAK C. und MIERSCH J., 1967 - Harnstoff Metabolismus bei Basidiomyceten .IV. Untersuchungen zur Physiologie des Harnstoffs. *Ibidem* 158: 27-57.
- ROSENTHAL G.A. and DAVIS D.L., 1975 - Reexamination of the reported occurrence of L-canavanine in *Agaricus campestris*. *Phytochemistry* 14: 1117-1118.



- RUFFNER H.P., RAST D., TOBLER H. and KARESCH H., 1978 - Purification and properties of mannitol dehydrogenase from *Agaricus bisporus* sporocarps. *Ibidem* 17: 865-868.
- SPERONI J.J., BEELMAN R.B. and SCHISLER L.C., 1983 - Factors influencing the agaritine content in cultivated mushrooms, *Agaricus bisporus*. *J. Food Protec.* 46: 506-509.
- SCHÜTTE H.R., LIEBISCH H.W., MIERSCH O. und SENF L., 1972 - Untersuchungen zur Biosynthese des Agaritins in *Agaricus bisporus*. *Anales Chim.* 68: 899-903.
- STÜSSI H. and RAST D., 1981 - The biosynthesis and possible function of  $\gamma$ -glutaminyl-4-hydroxybenzene in *Agaricus bisporus*. *Phytochemistry* 20: 2347-2352.
- SZENT-GYORGYI A., CHUNG R.H., BOYAJIAN M.J., TISHLER M., ARISON B.H., SCHOENEWALDT E.F. and WITTICK J.J., 1976 - Agaridoxine, a mushroom metabolite. Isolation, structure and synthesis. *J. Org. Chem.* 41: 1603-1606.
- TURNER E.M., 1974 - Phenoloxidase activity in relation to substrate and development stage of the mushroom *Agaricus bisporus*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 63: 541-547.
- VAN DER MEER M.A., 1987 - De samenstelling van de geteelde champignon I. *Champignoncultuur* 31: 331-347.
- VARO P., LÄHELMÄ O., NUURTAMO M., SAARI E. and KOIVISTOINEN P., 1980 - Mineral element composition of Finnish foods. VII. Potato, vegetables, fruits, berries, nuts and mushrooms. *Acta Agric. Scand.*, Suppl. 22: 107-113.
- VOGEL F.S. and WEAVER R.F., 1972 - Concerning the induction of dormancy in spores of *Agaricus bisporus*. *Exp. Cell Res.* 75: 95-104.
- WEAVER J.C., KROGER M. and KNEEBONE L.R., 1977 - Comparative studies (Kjeldahl, dye binding, amino acid analysis) of nine strains of *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach mushrooms. *J. Food Sci.* 42: 364-366.
- WELLS T.K., HAMMOND J.B.W. and DICKERSON A.G., 1987 - Variations in activities of glycogen phosphorylase and trehalase during the periodic fruiting of the edible mushroom *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach. *New Phytol.* 105: 273-280.
- WOOD D.A., 1979 - Biochemical changes during growth and development of *Agaricus bisporus*. *Mushroom Sci.* 10: 401-417.
- WOOD D.A., 1980 a - Production, purification and properties of extracellular laccase of *Agaricus bisporus*. *J. Gen. Microbiol.* 117: 327-338.
- WOOD D.A., 1980 b - Inactivation of extracellular laccase of *Agaricus bisporus* during fruiting. *Ibidem* 117: 339-345.
- WOOD D.A., 1985 - Production and roles of extracellular enzymes during morphogenesis of basidiomycete fungi. In: D.M. MOORE, *Developmental Biology of Agarics*. Symp. Ser., Brit. Mycol. Soc., Cambridge Univ. Press: 375-387.
- WOOD D.A. and GOODENOUGH P.W., 1977 - Fruiting of *Agaricus bisporus*. Changes in extracellular enzyme activities during growth and fruiting. *Arch. Microbiol.* 114: 161-165.
- WOOD D.A. and HAMMOND J.B.W., 1977 - Inhibition of growth and development of *Agaricus bisporus* by Polyoxin D. *J. Gen. Microbiol.* 98: 625-628.